

عصاره هیدروالکلی میوه گیاه پنج انگشت (*Vitex agnus castus*) در مهار درد و التهاب در موش کوچک آزمایشگاهی

دکتر مینا رضانی^{۱*}، دکتر غلامرضا امین^{**}، الهام جلیلی^{***}

*استادیار گروه زیست شناسی - دانشگاه آزاد اسلامی واحد آشتیان، **استاد گروه فارماکولوژی - دانشگاه تهران، ***دانشجوی کارشناسی ارشد

علوم جانوری - دانشگاه پیام نور تهران

تاریخ دریافت: ۸۸/۲۳ تاریخ تایید: ۸۸/۱۲/۱۵

چکیده:

زمینه و هدف: از آنجا که در طب سنتی اثرات ضد دردی و ضد التهابی به گیاه پنج انگشت نسبت داده شده است. این مطالعه با هدف بررسی اثرات ضد دردی و ضد التهابی عصاره هیدروالکلی میوه گیاه پنج انگشت (*Vitex agnus-castus*) در موش کوچک نر نژاد آزمایشگاهی NMRI انجام شده است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی از ۱۱۲ سر موش نر بالغ نژاد NMRI استفاده شد. در تست التهاب، حیوانات به ۷ گروه شاهد، کنترل مثبت (دریافت کننده دگزامتازون با دوز ۱۵ mg/kg) و پنج گروه دریافت کننده دوزهای ۲۶۵، ۳۶۵، ۴۶۵، ۵۶۵ و ۶۶۵ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی میوه پنج انگشت تقسیم و برای ایجاد التهاب از گزیلین استفاده شد. جهت بررسی اثر ضد دردی عصاره، تست فرمالین مورد استفاده قرار گرفت. در این تست نیز حیوانات به ۷ گروه شاهد، کنترل مثبت (دریافت کننده مورفین با دوز ۱۰ mg/kg) و پنج گروه دریافت کننده عصاره تقسیم شدند. تزریقات به روش داخل صفاقی و ۳۰ دقیقه قبل از شروع هر تست انجام شد. داده ها با استفاده از آزمون های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و سپس توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها: تمام دوزهای عصاره اثر ضد التهابی قابل ملاحظه ای را در مهار التهاب گوش، ناشی از گزیلین در مقایسه با گروه شاهد نشان داد ($P < 0/05$). هیچ یک از دوزها درد حاد ایجاد شده توسط فرمالین را در فاز اول (۰-۵ دقیقه) مهار نکردند ولی در فاز دوم (۳۰-۱۵ دقیقه) دوزهای ۲۶۵، ۳۶۵، ۴۶۵ و ۵۶۵ میلی گرم بر کیلوگرم به طور معنی داری درد مزمن را کاهش دادند ($P < 0/05$).

نتیجه گیری: عصاره گیاه پنج انگشت در مهار التهاب و همچنین فاز دوم درد (درد التهابی) موثر بوده و می تواند در درمان بیماری هایی که همراه با التهاب هستند موثر باشد. هر چند شناخت مواد موثره این گیاه نیاز به مطالعات وسیع تری دارد.

واژه های کلیدی: التهاب، درد، فرمالین، گزیلین، گیاه پنج انگشت.

مقدمه:

کاربرد دارد مورد بررسی قرار گرفته است. پنج انگشت که به نام های گیاه زنان و یا Chaste tree شناخته شده، درختچه ای بومی نواحی مرکزی آسیا است. نام علمی این گیاه *Vitex agnus-castus* بوده و متعلق به تیره شاه پسند (Verbenaceae) است. این گیاه درختچه ای است به ارتفاع ۱/۵ تا ۲ متر، دارای

درد و التهاب هر دو مکانیسم های دفاعی بدن هستند که به دنبال هر گونه آسیب به بافت ایجاد می شوند. به دلیل اثرات جانبی داروهای شیمیایی مهار کننده درد و التهاب مثل ایجاد زخم معده و وابستگی، داروهای گیاهی جایگزین مناسبی برای آنها هستند. در این مطالعه اثرات میوه پنج انگشت که در طب سنتی

^۱نویسنده مسئول: آشتیان - دانشگاه آزاد اسلامی - گروه زیست شناسی - تلفن: ۰۰۹۱۲۲۲۳۸۴۰۵ E-mail: ramezani@gmail.com

می‌کنند و فعالیت القا کنندگی آپوپتوز در سلول‌های سرطانی را دارند (۱۰). عصاره این گیاه پایین آورنده سطح کلسترول خون است (۳). فلاونوئیدها، ترپن‌ها و استروئیدها از مهمترین مواد آنتی‌باکتریال موجود در گیاهان دارویی هستند که در گیاه پنج انگشت نیز یافت می‌شوند. روغن‌های ضروری این گیاه نیز نقش ضد باکتری و قارچی دارند (۱۱). از جمله ترکیبات دیگری که در این گیاه یافت شده، پی‌نن (Pinene) است این ترکیب دارای خواص ضد تشنجی می‌باشد (۱۲).

از پنج انگشت در طب سنتی ایران نیز استفاده‌های زیادی شده و خواص دارویی متعددی نیز برای آن ذکر شده که از آن جمله می‌توان به خواص، ضد التهاب، مقوی، مدر، کاهنده شهوت، اشتها آور، مخدر، بادشکن و ضد نفخ اشاره کرد (۱). پژوهش حاضر با هدف اثبات علمی اثرات ضد دردی و ضد التهابی عصاره هیدروالکلی میوه پنج انگشت با استفاده از تست درد فرمالین و تست التهابی گزین انجام شده است.

روش بررسی:

حیوانات آزمایشگاهی:

در این مطالعه تجربی از موش‌های نر بالغ با وزن ۲۵-۲۰ گرم از نژاد NMRI خریداری شده از انستیتو پاستور ایران استفاده شد. موش‌ها در اتاق حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی آشتیان و تحت شرایط کنترل شده از نظر نور، دما، رطوبت و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند.

تهیه و آماده سازی گیاه:

در این تحقیق از میوه گیاه پنج انگشت (جمع آوری شده از منطقه قم) که در هر بار یکم بخش فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه تهران مورد تایید قرار گرفت استفاده شد. میوه‌ها در شرایط استاندارد، دور از نور خورشید، رطوبت، آلودگی میکروبی با تهویه مناسب و در سایه خشک شدند و از آسیاب الکتریکی برای پودر کردن میوه گیاه استفاده شد.

برگهای زود افت، پنجه‌ای و منقسم به ۵ تا ۷ برگچه است. گل‌های آن زیبا، به رنگ آبی مایل به بنفش به صورت سنبله دراز می‌باشد. از میوه، دانه، برگ و گل آن استفاده‌های دارویی متعددی می‌شود. میوه آن شفت و دارای درون بر سخت و مقاوم است (۱). از کلیه قسمت‌های این گیاه، مخصوصاً برگ و میوه آن، بویی شبیه بوی فلفل استنشام می‌شود که باعث نامگذاری گیاه به نام فلفل شده است که البته با گیاه فلفل (Pepper nigrum) متفاوت است. این گیاه بومی اروپای مدیترانه‌ای و آسیای مرکزی است. در ایران این گیاه در تهران، کرج، خراسان و قم می‌روید (۲).

تمام قسمت‌های گیاه دارای نوعی اسانس مخصوص است که مرکب از سینئول، سابی‌نن، پی‌نن و سزکویی‌ترین می‌باشد. روغن‌های ضروری، گلیکوزیدها، فلاونوئیدها، دی‌ترین‌ها و اسیدهای چرب ضروری از دیگر ترکیبات این گیاه است (۳،۴). استفاده دارویی از پنج انگشت به قرن‌ها پیش بر می‌گردد. اولین گزارشات از استفاده دارویی به چهار قرن پیش از میلاد بر می‌گردد که در آن زمان برای درمان بیماری‌های رحم بکار می‌رفته است. این گیاه یکی از مهمترین گیاهانی است که در طب گیاهی برای درمان بیماری‌های هورمونی زنان بکار رفته و تنظیم‌کننده هورمونی است (۵). از این گیاه به طور وسیعی در درمان ناراحتی‌های پستان، بی‌نظمی‌های قاعدگی و خونریزی‌های رحمی استفاده شده است (۶). بعضی پزشکان از این گیاه در سه ماهه اول بارداری برای جلوگیری از سقط جنین در بیمارانی که دچار کمبود پروژسترون هستند استفاده می‌کنند (۷،۸).

اسیدهای چرب غیر اشباع در گیاه پنج انگشت می‌تواند از طریق کاهش تعداد رسپتورهای LH موجود در سطح سلول‌های لایدیگ و متعاقب آن کاهش ترشح تستوسترون اثر منفی بر باروری مردان داشته باشد (۹). مطالعات آزمایشگاهی نشان می‌دهد که ترکیبات پلی‌فنلی گرفته شده از این گیاه از قبیل فلاونوئیدها، به عنوان ترکیبات ضد سرطانی عمل

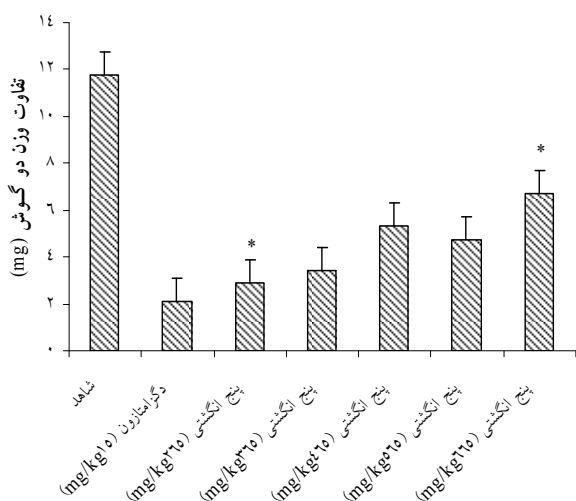
درصد (Romil، انگلستان) به زیر پوست کف پای راست حیوان به صورت زیر جلدی تزریق شد و حیوان مجدداً در دستگاه تست درد در زیر قیف شیشه ای قرار داده شد. میانگین زمان لیسیدن پا (Licking time) در فاصله زمانی ۵-۰ دقیقه به عنوان فاز اول درد و ۳۰-۱۵ به عنوان فاز دوم درد در نظر گرفته شد (۱۶).

داده های بدست آمده پس از بررسی نرمال بودن توسط آزمون کولموگوروف اسمیرنوف با آنالیز واریانس یکطرفه و سپس آزمون توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها:

تیمار با تمام دوزهای عصاره میوه گیاه پنج انگشت باعث مهار التهاب حاد ناشی از گزایلن در گوش موش ها در مقایسه با گروه شاهد شد ($P < 0/05$). سایر دوزها به جز دوز ۶۶۵ mg/kg تفاوت معنی داری با دگزامتازون در مهار التهاب نداشتند موثرترین دوز در مهار التهاب، دوز ۲۶۵ mg/kg بود (نمودار شماره ۱).

در تست فرمالین، عصاره در هیچ یک از دوزها تفاوت معنی داری را در کاهش میانگین زمان لیسیدن در فاز



نمودار شماره ۱: اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی میوه گیاه پنج انگشت بر تورم گوش القا شده با گزایلن. $n=8$

$P < 0/05$ در تمام گروه ها نسبت به گروه شاهد.

* $P < 0/05$ نسبت به گروه دگزامتازون

جهت تهیه عصاره از روش پرکولاسیون استفاده شد (۱۳). به این منظور ۱۰۰ گرم از میوه گیاه را پس از خرد کردن با نسبت ۸۰ به ۲۰ الکل اتانول به آب مقطر خیس کرده و سپس محلول بدست آمده را صاف کردیم. ماده صاف شده را بدور از نور مستقیم، خشک کرده و جهت تزریق، عصاره به دست آمده به نسبت ۱ به ۱۰ توئین (۲۰٪) در نرمال سالین حل شد. انتخاب دوزها با توجه به دوز کشنده عصاره ($LD_{50}=1.65g/kg$) انجام شد (۱۴).

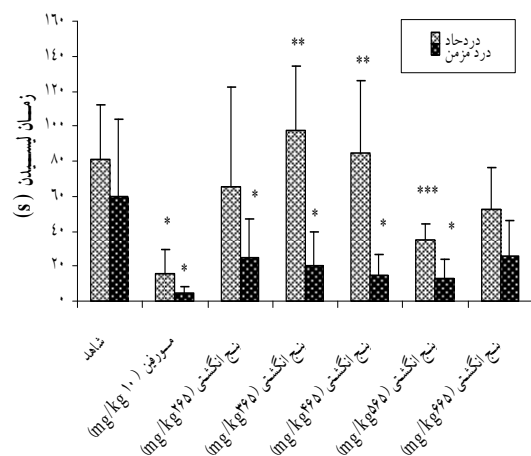
تست التهاب: موش ها به ۷ گروه تقسیم شدند: گروه شاهد (دریافت کننده نرمال سالین)، کنترل مثبت (دریافت کننده دگزامتازون با دوز ۱۵ mg/kg) و پنج گروه دریافت کننده دوزهای ۲۶۵، ۳۶۵، ۴۶۵، ۵۶۵ و ۶۶۵ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی گیاه پنج انگشت. جهت ایجاد التهاب از گزایلن (Romil، انگلستان) استفاده شد (۱۵). در هر گروه ۸ سر موش مورد آزمایش قرار گرفت و تزریقات به صورت داخل صفاقی انجام شد. ۳۰ دقیقه پس از تزریق عصاره با دوزهای ذکر شده، ۰/۰۳ میلی لیتر گزایلن بر سطح جلویی و عقبی لاله گوش راست حیوان مالیده شد. گوش چپ به عنوان کنترل در نظر گرفته شد. پس از گذشت دو ساعت موش ها کشته شدند و برش های دایره ای به قطر ۷ میلی متر از گوش آنها به وسیله چوب پنبه سوراخ کن گرفته شد و وزن گردید. اختلاف وزن گوش چپ و راست نشان دهنده میزان التهاب است.

تست فرمالین: موش ها به شیوه فوق به ۷ گروه تقسیم شدند. فقط در گروه کنترل مثبت به جای دگزامتازون از مورفین (۱۰ mg/kg) استفاده شد. بلافاصله پس از تزریق حیوان برای انطباق با محیط در جعبه شفاف مخصوص تست فرمالین در زیر قیف شیشه ای قرار می گرفت. این جعبه به ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ بوده و به منظور مشاهده بهتر حرکات، آینه ای با زاویه ۴۵ درجه زیر آن و روبروی مشاهده کننده قرار می گرفت. ۳۰ دقیقه پس از تزریق عصاره، ۰/۰۲ میلی لیتر فرمالین ۲/۵

که در نتیجه تولید ماده P ایجاد می شود در حالی که فاز مزمن، به دلیل پاسخ التهابی ناشی از آزاد شدن هیستامین، سروتونین، برادی کینین و پروستاگلاندین ها به وجود می آید. داروهایی که بر سیستم عصبی مرکزی موثرند، مانند مورفین هر دو فاز را به خوبی سرکوب می کنند. فاز مزمن درد توسط داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی (آسپرین و ایندومتاسین) و استروئیدها مهار می گردد (۱۶). علت مهار درد در فاز مزمن توسط داروهای ضد التهابی این است که این داروها با بلوکه کردن سنتز پروستاگلاندین ها از پر دردی ناشی از التهاب جلوگیری می کنند (۱۷). مهار درد در این مطالعه فقط در فاز دوم می تواند بیانگر این مطلب باشد که عصاره گیاه اثر ضد دردی خود را از طریق مهار سنتز یا آزاد سازی میانجی گره های التهاب اعمال می کند.

مطالعات نشان داده که روغن های ضروری مثل پینن، سابی نن، لیمونن و سینئول از جمله مواد موثره گیاه پنج انگشت هستند (۳). گزارش شده که لیمونن در تست فرمالین زمان لیسیدن را در فاز دوم درد کاهش می دهد به طوری که استفاده از نالوکسان (آنتاگونیست رسپتور های اپیوئیدی) اثر ضد دردی این ماده را مهار نمی کند. بنابراین، لیمونن اثر ضد دردی خود را در تست فرمالین از طریق اثر بر سیستم اپیوئیدی اعمال نمی کند بلکه با مهار سنتز میانجی گره های التهاب این عمل را انجام می دهد (۱۸). تحقیقات نشان داده که سینئول نیز از طریق مکانیسم غیر اپیوئیدی اثر ضد دردی از خود نشان می دهد (۱۹). با توجه به مطالب ذکر شده احتمالاً اثر ضد دردی گیاه پنج انگشت، ناشی از وجود این دو روغن ضروری در گیاه است. در پژوهش حاضر، در تست التهاب گوش ناشی از گزین، تمام دوزهای عصاره میوه گیاه باعث مهار معنی دار التهاب نسبت به گروه شاهد شد. گزین ماده ای است که باعث ایجاد التهاب نوروزنیک می شود. به طوری که یکسری ترکیبات خاص از انتهای نورونهای حسی رها شده و باعث ایجاد التهاب می شوند (۲۰). تجزیه فیتوشیمیایی میوه گیاه پنج انگشتی نشان

اول درد یا درد حاد (نوروزنیک) نسبت به گروه شاهد نشان نداد ولی در فاز دوم درد یا درد مزمن (التهابی)، دوزهای ۲۶۵، ۳۶۵، ۴۶۵ و ۵۶۵ mg/kg به ترتیب یک روند کاهشی معنی دار را در میانگین زمان لیسیدن نشان دادند ($P < 0.05$) که میزان آن با مورفین (کنترل مثبت) تفاوت معنی داری نداشت. موثرترین دوز در مهار درد مزمن، دوز ۵۶۵ mg/kg بود (نمودار شماره ۲).



نمودار شماره ۲: اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی میوه پنج انگشت بر درد حاد و مزمن با استفاده از تست فرمالین.
n=8

* $P < 0.05$ نسبت به گروه شاهد در همان مراحل.

** $P < 0.05$ نسبت به گروه مورفین در مرحله درد حاد

*** $P < 0.05$ نسبت به گروه ۳۶۵ mg/kg در مرحله درد حاد

درد حاد: ۵-۱۰ دقیقه پس از تزریق فرمالین

درد مزمن: ۳۰-۲۵ دقیقه پس از تزریق فرمالین

بحث:

در این تحقیق، اثر ضد دردی عصاره هیدروالکلی میوه پنج انگشت با استفاده از تست فرمالین در موش سوری مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که دوزهای مختلف عصاره تاثیر قابل توجهی بر مرحله اول درد یا درد حاد در تست فرمالین نداشت. اما زمان های لیسیدن را در مرحله دوم درد یا درد التهابی نسبت به گروه شاهد به طور موثری مهار کرد.

فاز اولیه یا نوروزنیک درد، به دلیل تاثیر مستقیم محرک بر گیرنده های درد ایجاد می شود و نتیجه ی مستقیم تحریک پا و عکس العمل درد مرکزی است

مورد بررسی قرار گرفته و مشخص شده که از میان آنها p-هیدروکسی بنزوئیک اسید، ۳ و ۴ دی هیدروکسی بنزوات و ۳ و ۴ دی هیدروکسی بنزوئیک، فعالیت ضد التهابی معنی داری دارند (۲۴).

نتیجه گیری:

بر اساس یافته‌های این پژوهش عصاره هیدروالکلی میوه پنج انگشت دارای اثرات قوی ضد دردی و ضد التهابی است که کاربرد سنتی آن را برای درمان دردهای التهابی مانند روماتیسم، آرتريت روماتوئید تایید می‌کند. با توجه به مطالعات سایرین به نظر می‌رسد که این اثرات را بتوان به وجود روغن‌های ضروری در گیاه (لیمون و سینثول) و فلاونوئیدها بویژه کاستیسن نسبت داد. البته واضح است که اثبات آن نیاز به شناخت دقیق مواد موثره میوه پنج انگشت، مکانیسم عمل آنها و انجام آزمایشات بالینی دارد. در این صورت می‌توان عصاره این گیاه را به جای داروهای ضد التهابی که دارای عوارض جانبی متفاوت از قبیل ناراحتی‌های گوارشی بوده، ایجاد وابستگی کرده و در مواردی هم اثر بخش نیستند به کار برد.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از زحمات کلیه پرسنل محترم آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی آشتیان که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند تشکر می‌نمایم.

می‌دهد که این گیاه علاوه بر روغن‌های ضروری، شامل گلیکوزیدهای ایریدوئید، فلاونوئیدها و دی‌ترین‌ها نیز می‌باشد (۵). فلاونوئیدها اثرات وسیعی بر سیستم‌های بیولوژیک دارند و انواع وسیعی از سیستم‌های آنزیمی از قبیل مسیرهای سیکلواکسیژناز و ۵-لیپواکسیژناز در متابولیسم آراشیدونیک اسید (ماده واسطه التهاب) را مهار می‌کنند و از این راه اثر ضد التهابی خود نشان می‌دهند (۲۰). با توجه به آزمایشات مختلفی که بر روی ترکیبات فلاونوئیدی گیاهان مختلف انجام شده می‌توان به این مطلب اشاره کرد که فلاونوئیدها از جمله ترکیباتی هستند که خاصیت ضد دردی و ضد التهابی دارند و اثر ضد دردی و ضد التهابی این گیاه نیز می‌تواند به دلیل وجود چنین ترکیباتی باشد (۲۰، ۲۱). از مهمترین فلاونوئیدهای شناخته شده میوه پنج انگشت می‌توان به کاستیسن اشاره کرد. تاثیر کاستیسن جدا شده از میوه *Vitex rotundifolia* که بومی چین است در مهار التهاب حاد (تست التهاب گوش ناشی از گزیلن) نشان داده شده است (۲۲). همچنین عصاره آبی برگ‌های *Vitex negundo* که گونه‌ای نزدیک به *Vitex agnus castus* است، اثرات ضد دردی و ضد التهابی را در موش صحرایی نشان داده است که این اثرات احتمالاً از طریق مهار سنتز پروستاگلاندین و هیستامین و وجود فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه است (۲۳). اخیراً مواد موثره گیاه *Vitex agnus castus* جدا شده و اثرات ضد التهابی آنها در تست cell-based contemporary

منابع:

- 1.Zargari A. [Medical plants. Tehran: Tehran Univ Pub; 1996. p: 716-18.]Persian
- 2.Ghahraman A. [Iranian cryophytes. Tehran: Tehran Univ Pub; 2003. p: 315.]Persian
- 3.Nasri S, Ebrahimi S. [Medical effect of *Vitex agnus- castus*. J Babol Univ of Med Sci. 2006; 7: 49-53.]Persian
- 4.Nyiligira E, Viljoen AM, Van Heerden FR, Van Zyl RL, Van Vuuren SF, Steenkamp PA. Phytochemistry and in vitro pharmacological activities of South African *Vitex* (Verbenaceae) species. *Ethnopharm.* 2008; 119: 680-5.

5. Cossuta D, Simndi E, Vagi J, Hohmann A, Prech I. Supercritical fluid extraction of *Vitex agnus castus* fruit. *J Supercritical Fluids*. 2008; 47: 188-94.
6. Roemheld-Hamm B. Chasteberry. *Am Fam Phys*. 2005; 72(5): 821-4.
7. Daniele C, Thompson Coon J, Pittler MH, Ernst E. *Vitex agnus castus* :a systematic review of adverse events. *Drug Saf*. 2005; 28(4): 319-32.
8. Dugoua JJ, Seely D, Perri D, Koren G, Mills E. Safety and efficacy of chastetree (*Vitex agnus castus*) during pregnancy and lactation. *Can J Pharmacol*. 2008; 15: 74-9.
9. Ramezani M, Nasri S, Bahadoran H. [The effect of *Vitex agnus castus* total extract on spermatogenesis of Balb/C mice. *Armaghan Danesh (J Kashan of Univ Med)*. 2008; 52(4): 35-44.] Persian
10. Ohyama K. Cytotoxicity and apoptotic inducibility of *Vitex agnus-castus* fruit extract in cultured human normal and cancer cells and effect on growth. *Biol Pharm Bull*. 2003; 26: 10-18.
11. Arokiyaraj S, perinbam K, Agastian P, Kumar RM. Phytochemical analysis and antibacterial activity of *Vitex agnus castus*. *Int J Green Pharm*. 2009; 3: 162-4.
12. Saberi M, Rezvanizadeh A, Bakhtiarian A. The antiepileptic activity of *Vitex agnus castus* extracts on amygdale kindeled seizures in male rats. *Neurosci Lett*. 2008; 441: 193-6.
13. Duraipandiyan V, Ayayanar M, Ignacimuthu S. Antimicrobial activity of some ethnomedicinal plants used by player tribe from Tamil Nadu. India: *BMC. Complement Altern Med*. 2006; 17(6): 35.
14. Nasri S, Oryan SH, Rohani AH, Amin GHR. The effect of *Vitex agnus castus* extract on LH and testosterone in male mice. *Pak J Biol Sci*. 2007; 10(14): 2300-7.
15. Atta AH, Alkofahi A. Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of some Jordanian medical plant extracts. *J Ethnopharm*. 1998; 60: 117-24.
16. Hunskaar S, Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain*. 1987; 30: 103-14.
17. Zeashan H, Amresh G, Venkateswara Rao C, Singh S. Antinociceptive activity of *Amarantus spinosus* in experimental animals. *J Ethnopharma*. 2009; 54: 1-5.
18. Falcao D, Gomes S, Aquino N, Teixeira N, Arcanjo M, Vasconcelos D, et al. Antinociceptive effect of the monoterpene R-(+)-limonene in mice. *Biol Pharm Bull*. 2007; 30: 1217-20.
19. Golshani S, Karamkhani F, Monsef-Esfehani HR, Abdollah Mohammad I. Antinociceptive effects of the essential oil of *Dracocephalum kotschyi* in the mouse writhing test. *J Pharm Pharmaceut Sci*. 2004; 7(1): 76-9.
20. Rotelli EA, Guardia T, Juarez OA, Rocha NE, Pelzer LE. Comparative study of flavonoids in experimental models of inflammation. *Pharmacol Res*. 2007; 48: 601-6.
21. Ramezani M, Nasri S, Yasa N. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of isolated fractions from *Apium graveolens* seeds in mice. *Pharm Biol*. 2009; 47(8): 740-3.
22. Lin S, Zhang H, Han T, Wu JZ, Wu JZ, Rahman K, et al. In vivo effect of casticin on acute inflammation. *Zhang Xi Yi Jie He Xue Bao*. 2007; 5(5): 573-6.
23. Dharmasiri MG, Javakody JR, Galhena G, Livanage SS, Ratnasooriya WD. Anti-inflammatory and analgesic activities of mature fresh leaves of *Vitex negundo*. *J Ethnopharm*. 2003; 87: 199-206.
24. Choudhary MI, Azizuddin, Jalil S, Nawaz SA, Khan KM, Tareen RB, Atta-ur Rahman. Antiinflammatory and lipooxygenase inhibitory compounds from *Vitex agnus-castus*. *Phytoter Res*. 2009; 23(9): 1336-9.

Accepted: 6/Mar/2010 14/Nov/2009

Received:

Antinociceptive and anti-inflammatory effects of hydroalcoholic extract of *Vitex agnus castus* fruit in mice

Ramezani M (PhD)^{*1}, Amin GH (PhD)^{**}, Jalili A (Msc)^{***}
^{*}Assistant professor, Biology Dept., Islamic Azad Univ, Ashtian branch, Ashtian, Iran, ^{**}Professor, Pharmacognosy Dept., Tehran Univ, Tehran Iran, ^{***}Biology Dept., Payamenoor Univ. Tehran, Iran.

Background and aim: Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Vitex agnus castus* has been mentioned in traditional herbal medicine. In present study, we decided to evaluate the effects of anti-inflammatory and antinociceptive of Vitex hydro-alcoholic extract in mice.

Methods: In this experimental research, 112 adult male NMRI mice were used. Mice were divided into 7 groups for inflammatory test: first group was control. The second group was positive control group (receiving dexamethasone, 15 mg/kg) and the other five groups received different doses of hydroalcoholic extract of Vitex fruit (265, 365, 465, 565, and 665 mg/kg, i.p.). Inflammation was induced by xylene in ear of mice. Formalin test was used for evaluation of antinociceptive effect of extract. In this test, mice were divided into 7 groups: control, morphin (10mg/kg) as positive control group, and Vitex extract groups (265, 365, 465, 565, and 665 mg/kg). All drugs were administered i.p., 30 min before each test. The data were analyzed using one-way ANOVA followed by Tukey-kramer multiple comparison test.

Results: Results showed significant anti-inflammatory effects of extract at all doses as compared with control ($P < 0.05$). In the first phase of formalin test (0-5 min) none of extract doses could inhibit acute pain, but in the second phase (15-30 min) chronic pain was decreased at 265, 365, 465, and 565 mg/kg doses ($P < 0.05$).

Conclusion: The result of this research indicates that Vitex extract remarkably inhibits inflammation and second phase of nociception (inflammatory pain) and can be used for treatment of inflammatory diseases. However more researches are needed to find out the effective compounds in *Vitex agnus castus* fruit.

Keywords: Formalin, Inflammation, Nociception, *Vitex agnus castus*, Xylene.

